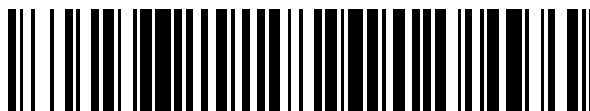


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 421 441**

51 Int. Cl.:

A61K 51/12

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.06.2008** **E 08761289 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.03.2013** **EP 2160202**

54 Título: **Composiciones que contienen partículas inorgánicas que emiten positrones y su utilización en medicina, en particular para procedimientos diagnósticos**

30 Prioridad:

22.06.2007 EP 07110908

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
02.09.2013

73 Titular/es:

**NANOPET PHARMA GMBH (100.0%)
ROBERT-KOCH-PLATZ 4
10115 BERLIN, DE**

72 Inventor/es:

SCHILLING, KRISTIAN

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 421 441 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composiciones que contienen partículas inorgánicas que emiten positrones y su utilización en medicina, en particular para procedimientos diagnósticos.

Núclidos para la tomografía de emisión de positrones (PET)

De los más de 50 emisores de positrones conocidos, sólo unos pocos pueden utilizarse en medicina. Los núclidos de PET más importantes en la actualidad son $[18]F$, $[11]C$, $[13]N$ y $[15]O$. Se distinguen por su vida media extremadamente corta, que se extiende de aproximadamente 110 min para $[18]F$ a aproximadamente 2 min para $[15]O$.

Dichas vidas medias cortas, a pesar de sus requerimientos enormes con relación a su provisión y evaluación con aparatos de medición, ofrecen al paciente la ventaja de una pequeña exposición a la radiación, debido a su duración de exposición muy corta.

Otra ventaja de dichos núclidos de PET radica en el hecho de que básicamente cualquier molécula orgánica puede ser marcada radiactivamente con los mismos. Cada molécula orgánica posee uno o más átomos de carbono (normalmente: $[12]C$), uno de los cuales puede ser substituido por un $[11]C$. Además, muchas moléculas orgánicas llevan un átomo de oxígeno o nitrógeno.

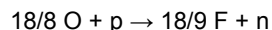
Aunque el flúor ocurre muy raramente en los compuestos naturales y sintéticos, puede incorporarse de forma relativamente sencilla en las moléculas orgánicas por sustitución de átomos de hidrógeno o grupos hidroxilo. Puesto que la vida media relativamente larga de $[18]F$ facilita la preparación y aplicación de los radiofármacos marcados con $[18]F$, es el núclido de PET utilizado más a menudo.

Por tanto, es posible marcar en particular los compuestos endógenos, tales como los carbohidratos, aminoácidos, enzimas, hormonas o neurotransmisores, pero también otros fármacos, con los emisores de positrones, sin que tenga lugar un cambio sustancial en su estructura y con ello en sus propiedades bioquímicas y farmacológicas. Las cantidades absolutas administradas de las sustancias marcadas son tan pequeñas (en el rango micromolar) que las concentraciones fisiológicas no se ven afectadas.

Generación de emisores de positrones

Puesto que todos los emisores de positrones utilizados en medicina presentan vidas medias extremadamente cortas, no pueden mantenerse en almacenaje, sino que deben prepararse individualmente en el mismo lugar. Puesto que esto requiere un acelerador de partículas (frecuentemente un ciclotrón), existen muy pocos centros de PET – mayoritariamente en las más grandes clínicas universitarias.

A continuación, se explicará la denominada reacción de blanco, citando la producción de iones de $[18]F$ a título de ejemplo. En dicha reacción, un protón acelerado es incidente en el blanco en un átomo de $[18]O$ de agua enriquecida con $[18]O$. Esto produce un átomo de flúor $[18]F$ acompañado de la emisión de un neutrón:



Dicho átomo presenta una carga negativa y sale del blanco en forma de una solución acuosa de $[18]F$ fluoruro. Seguramente, $[18]F$ desempeña el papel más importante en la preparación de los radiofármacos de PET. $[18]F$ es también el único emisor de positrones que puede transportarse hasta cierto punto de un centro de PET dotado de un ciclotrón a otra instalación de medicina nuclear.

El producto suministrado puede ser ya el radiofármaco listo para su aplicación o, alternativamente, el producto de irradiación (normalmente $[18]F$ flúor), en cuyo caso la síntesis radioquímica propiamente dicha se produce entonces en el mismo lugar.

Debido a su vida media corta, los emisores de positrones $[11]C$, $[13]N$ y $[15]O$ pueden producirse sólo para su aplicación inmediata en el centro de PET.

Síntesis radioquímica

En muy pocos casos, el radionúclido, tal como se produce en el blanco del ciclotrón, constituye ya el fármaco radiactivo. Por tanto, a continuación, el mismo se incorpora en un compuesto organoquímico (estructura de la química orgánica al contrario de la química inorgánica).

Mientras que el isótopo de tecnecio Tc-99m está unido a una sustancia de soporte específica para un receptor en la mayoría de los casos en forma de un complejo, los núclidos de PET se integran en el radiofármaco por medio de un enlace covalente.

Esto requiere una síntesis química que no se diferencia de las reacciones convencionales de la química preparativa en la medida en que los elementos y sustancias radiactivas presentan las mismas propiedades químicas que sus análogos no radiactivos.

Sin embargo, puesto que la dosis de radiación que procede de las actividades de partida es normalmente mucho más alta que los valores límite admisibles, casi todos los radiofármacos preparados de forma rutinaria no se preparan manualmente, sino por control remoto con la ayuda de módulos de síntesis automáticos o por medio de robots.

El principio funcional de todos los módulos de síntesis automáticos es básicamente siempre el mismo. Los módulos de síntesis permiten transportar fluidos de un recipiente a otro y agitar, calentar, enfriar, concentrar, extraer y filtrar (estérilmente) y envasar los mismos.

Los procesos de lavado y limpieza requeridos tras la síntesis deberían transcurrir también automáticamente, si es posible, y realizarse rápida y sencillamente, de modo que otra síntesis pueda transcurrir en el aparato a intervalos breves.

A menudo, una vez terminada la limpieza del producto, se requiere un HPLC preparativo también automatizado. Finalmente, la solución acuosa del radiofármaco se isotoniza por adición de una cantidad adecuada de (una solución de) sal común y la misma se hace pasar por un filtro estéril bajo presión y se coloca en el recipiente de suministro.

Entre los radiofármacos de PET más importantes, se incluyen:

- [11]C-metionina como marcador más importante en el metabolismo de aminoácidos,
- 1-[11]C-acetato para el diagnóstico del corazón,
- Agua [15]O-marcada para el diagnóstico de desórdenes de circulación, y
- [18]F-fluoro-DOPA para el diagnóstico temprano de Morbus Parkinson y de otros desórdenes de dopamina.
- [18]F-2-fluoro-2-desoxiglucosa (FDG) es seguramente el radiofármaco de PET más importante, que se utiliza en particular en el diagnóstico oncológico, pero también en otros campos (ver abajo).

Además de esto, otro factor importante es la característica de todos los radiofármacos utilizados en el diagnóstico humano, en particular de los radiofármacos de PET, que todas las sustancias presentan solamente un marcaje sencillo con un núclido diagnósticamente eficaz. Por tanto, cada molécula puede emitir, como máximo, una señal diagnósticamente utilizable.

Diagnóstico de medicina nuclear

La precondition de todos los exámenes de medicina nuclear es la aplicación de una sustancia radiactiva, del radiofármaco, en el cuerpo humano. En la mayoría de los casos, dicha sustancia se administra por vía intravenosa y se distribuye con la sangre en todo el cuerpo al principio de forma más o menos homogénea.

Debido a la función biológica del radiofármaco o a una afinidad específica con sustancias y receptores determinados, se produce una redistribución inhomogénea, que puede medirse, debido a la radiación radiactiva, por detectores o tomógrafos exteriores, lo cual permite conclusiones con relación al estado funcional de los órganos y regiones del cuerpo examinados.

Diagnóstico de tumores con FDG-PET

Con mucho, el radiofármaco de PET más importante es [18]F-2-fluoro-2-desoxiglucosa, normalmente abreviado con FDG. Se trata de una molécula de glucosa que en C2 lleva un átomo de [18]F en lugar del grupo OH. Tras administración intravenosa, se concentra especialmente en las células con una demanda de glucosa aumentada.

Es que el cuerpo no diferencia entre glucosa "normal" y fluorodesoxiglucosa marcada con [18]F. Puesto que en las células tumorales de algunos tipos de tumores se produce un metabolismo aumentado, dichas células absorben más glucosa o FDG que las células no degeneradas, de modo que FDG-PET permite localizar los tumores.

Sin embargo, no siempre una concentración excepcional de la glucosa radiactiva indica una ocurrencia de cáncer. Por ejemplo, FDG se concentra de forma altamente no específica en el cerebro, lo cual dificulta por un lado el examen de planteamientos neurológicos y por otro lado da lugar a una exposición importante del tejido cerebral a la radiación.

Además de esto, el diagnóstico soportado por FDG-PET sólo tiene éxito en caso de tipos de tumores con absorción de glucosa elevada y por tanto no es capaz de localizar tipos de tumores de lento crecimiento.

Metrología

El alcance de un positrón emitido en el tejido es de sólo unos pocos milímetros, como máximo, hasta que, al toparse con un electrón, se convierte en dos cuantos- γ que se alejan volando en dirección diametral. El proceso entero, desde la emisión del positrón hasta la conversión de las masas en dos cuantos- γ , tarda aproximadamente unos 10^{-10} segundos (0,1 ns).

Para la detección de los cuantos- γ por medio de la PET, se utiliza un detector de coincidencia o detector de pares. Si cada uno de los dos detectores individuales, posicionados a un ángulo de 180° , registra un cuanto- γ de energía definida dentro de un intervalo de tiempo muy corto de aproximadamente 10 ns, se concluye que una descomposición de positrones ha tenido lugar en algún sitio en la ruta de conexión entre los dos detectores.

Además de limitaciones en el campo de la tecnología de detectores, el límite de resolución intrínseco está determinado por la longitud de trayectoria libre promedia del positrón en el medio circundante (tejido, fluido de tejido, sangre, etc.). Si fuera posible aumentar la densidad de electrones en el entorno de la descomposición de positrones, se aumentaría la probabilidad de interacción entre el positrón y un electrón. De esta manera, se acortaría la longitud de trayectoria libre promedia y se mejoraría el límite de resolución a valores más bajos.

Además, en el estado de la técnica hay que citar el documento US 2003/228260 A1, en el que se describen agentes de partículas, cuya variedad constituye una matriz, para ser utilizados en terapia.

Además, el "Handbook of Radiopharmaceuticals" (Welch, M. J. y Redvanly, C. S., 2003, John Wiley & Sons, Gran Bretaña) describe importantes temas tales como la producción de radionúclidos, PET y el desarrollo de los medicamentos y explica de qué manera se utilizan radiofármacos para el diagnóstico y terapia de cáncer y otras enfermedades.

Para resumir, el estado de la técnica adolece en particular de las siguientes desventajas y limitaciones:

El estado de la técnica sólo describe agentes diagnósticos procedentes de la gran cantidad de sustancias orgánicas. Para la preparación de las sustancias orgánicas, se requieren etapas de síntesis y purificación que conllevan mucho tiempo y a menudo son de muchos pasos, con la consecuencia de que, debido a las vidas medias cortas de los núclidos, el rendimiento relativo del producto diagnósticamente eficaz se vuelve cada vez más bajo a medida que aumenta el periodo de preparación. Además, el agente diagnóstico de PET más utilizado, la FDG, se concentra en el cerebro de forma altamente no específica, lo cual dificulta la investigación de planteamientos neurológicos y también ocasiona una alta exposición del tejido cerebral a la radiación. Además, el diagnóstico soportado por FDG-PET sólo tiene éxito en caso de tipos de tumores con absorción de glucosa aumentada, limitando considerablemente la localización de tipos de tumores de lento crecimiento. Puesto que los radiofármacos utilizados en el diagnóstico humano según el estado de la técnica, en particular los radiofármacos de PET, presentan solamente un marcaje sencillo con un núclido diagnósticamente eficaz, cada molécula puede emitir, como máximo, una señal diagnósticamente utilizable. Además de esto, los radiofármacos de PET orgánicos presentan una densidad electrónica similar a la del tejido circundante. Esto significa que no puede mejorarse la resolución espacial.

Por tanto, el objetivo de presente invención era encontrar nuevos agentes utilizables en medicina, en particular en el diagnóstico, que eviten los inconvenientes del estado de la técnica descritos anteriormente.

Por tanto, la presente invención se refiere a un agente farmacéutico que contiene una matriz inorgánica de partículas que comprende, además de la distribución de isótopos natural de los elementos de los aniones o cationes que forman el tipo de estructura, proporciones de núclidos que emiten positrones, siendo el número de núclidos que emiten positrones por matriz inorgánica de partículas preferentemente mayor que o igual a 1.

Los posibles tipos de estructura de la matriz inorgánica de partículas pueden comprender tanto estructuras amorfas como mezclas de estructuras amorfas y estructuras cristalinas. El término incluye tanto coloides, soles, suspensiones, nanosuspensiones como partículas amorfas y cristalinas.

Preferentemente, el número de los núclidos utilizables en medicina, en particular en el diagnóstico, es decir, de los núclidos que emiten positrones, por matriz inorgánica de partículas está comprendido entre 1 y 10.000.000 y, de forma particularmente preferida, entre 5 y 1.000.000, así como, de forma más preferida, entre 10 y 100.000.

Las partículas según la invención (de aquí en adelante, de forma análoga, también la matriz inorgánica de partículas) están constituidas mayoritariamente (ver también la definición de los tipos de estructura) por compuestos inorgánicos de baja solubilidad en agua y fluidos fisiológicos, por ejemplo por topacio, $(\text{Al}_2\text{F}_2)(\text{SiO}_4)_2$, y quiolita, $\text{Na}[\text{Al}_3\text{F}_4]$, preferentemente wavelita, $\text{Al}_3(\text{PO}_4)_2(\text{OH}, \text{F})_2$, carbonato cálcico, CaCO_3 , maghemita, $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$, de forma particularmente preferida zeolitas, fórmula general $\text{M}_n[(\text{AlO}_2)_x(\text{SiO}_2)_y]$ (M = metal, por ejemplo Na), magnetita, Fe_3O_4 , y sulfato de bario, BaSO_4 , así como, de forma más preferida, fosfato de galio, GaPO_4 , apatita o fluorhidroxapatita, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH}, \text{F}) = 3 \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 * \text{Ca}(\text{OH}, \text{F})_2$, y fluorespato, CaF_2 .

Preferentemente, los núclidos que emiten positrones se han seleccionado del grupo constituido por [15]O, [30]P, [13]N, [65]Ga, [11]C, [131]Ba, [26]Al, [68]Ga y [18]F. Por tanto, los agentes utilizables en medicina, en particular en el diagnóstico, para las partículas según la invención son [15]O, [30]P, [13]N, preferentemente [65]Ga, [11]C, de forma particularmente preferida [131]Ba, [26]Al, de forma más preferida [68]Ga y [18]F. Además de estos, pueden utilizarse todos los isótopos utilizables en medicina, conocidos por los expertos en la materia para preparar las partículas según la invención. Un extracto de algunos isótopos puede encontrarse en la Tabla 1.

Tabla 1: Extracto de isótopos utilizables (selección incompleta)

s = segundos; m = minutos; d = días; a = años

Isótopo	Vida media	Energía de desintegración (mEv)	Paridad de espín	Tipos de desintegración o frecuencia (%)
31S	2,572 s	5,396	1/2+	K/ β^+ = 100
15O	122,24 s	2,754	1/2-	K/ β^+ = 100
30P	2,498 m	4,232	1+	K/ β^+ = 100
13N	9,965 m	2,220	1/2-	K/ β^+ = 100
65Ga	15,2 m	3,255	3/2-	K/ β^+ = 100
11C	20,39 m	1,982	3/2-	K/ β^+ = 100
68Ga	67,629 m	2,921	1+	K/ β^+ = 100
18F	109,77 m	1,656	1+	K/ β^+ = 100
131Ba	11,50 d		1/2+	K/ β^+ = 100
26Al	7,17·105 a	4,004	5+	K/ β^+ = 100

¹²² Ba	1,95 h		0+	K/ β^+ = 100
¹²³ Ba	2,7 m		5/2-	K/ β^+ = 100
¹²⁴ Ba	11,0 m		0+	K/ β^+ = 100
¹²⁵ Ba	3,5 m		1/2(+)	K/ β^+ = 100
¹²⁶ Ba	100 m		0+	K/ β^+ = 100
¹²⁷ Ba	12,7 m		1/2+	K/ β^+ = 100
¹²⁹ Ba	2,23 h		1/2+	K/ β^+ = 100
¹²⁹ m1Ba	2,16 h		7/2+	K/ β^+ < 100
¹³¹ Ba	11,50 d		1/2+	K/ β^+ = 100

⁵¹ Fe	305 ms	8,020	5/2-	K/ β^+ = 100
⁵² Fe	8,275 h	2,372	0+	K/ β^+ = 100
⁵² m1Fe	45,9 s	9,192	(12+)	K/ β^+ < 100
⁵³ Fe	8,51 m	3,743	7/2-	K/ β^+ = 100

El diámetro de las partículas según la invención puede estar comprendido entre 0,1 nm y 100 μ m, preferentemente entre 1 nm y 10 μ m, de forma particularmente preferida entre 1 nm y 1 μ m.

En una forma de realización preferida del agente farmacéutico según la invención, las partículas según la invención se encuentran en una envoltura farmacéutica.

Según la invención, la envoltura se ha seleccionado del grupo constituido por: un polímero o copolímero sintético, un almidón o un derivado del mismo, un dextrano o un derivado del mismo, un ciclodextrano o un derivado del mismo, un ácido graso, un polisacárido, una lecitina o un mono-, di- o triglicérido o un derivado del mismo o mezclas de los mismos.

El polímero o copolímero sintético puede estar seleccionado del grupo constituido por ésteres de polioxi-etileno de sorbitano, polioxi-etilos y derivados de los mismos, polioxi-propilos y derivados de los mismos, sustancias tensoactivas no iónicas, polioxi-lestearatos (35-80), alcoholes polivinílicos, sucrosa polimerizada, poli(hidroxi-alquilmetacrilamidas), copolímeros de ácido láctico y glicólico, poliortoésteres, poli(alquilcianacrilatos), poli(etilenglicol), poli(propilenglicol), poligliceroles, matrices polivinílicas polihidroxilados, poli(hidroxi-etilaspartamidas), poliaminoácidos, copolímeros de estireno y ácido maleico, policaprolactonas, carboxipolisacárido y polianhídridos.

El derivado de almidón puede haberse seleccionado del grupo constituido por éter 2-hidroximetílico de almidón y hidroxietilalmidón.

El dextrano o derivado del mismo puede haberse seleccionado del grupo constituido por dextrano galactosilado, dextrano lactosilado, dextrano aminado, dextrano con grupos SH, dextrano con grupos carboxi, dextrano con grupos aldehídicos, dextrano biotinilado.

El ciclodextrino puede haberse seleccionado del grupo constituido por beta-ciclodextrino y hidroxipropilciclodextrino.

5 El ácido graso puede haberse seleccionado del grupo constituido por sulfato de laurilo y sodio, estearato sódico, ácido esteárico, monolaurato de sorbitano, monooleatos de sorbitano, monopalmitato de sorbitano y monoestearato de sorbitano.

10 Otra forma de realización preferida del agente farmacéutico consiste en que las partículas inorgánicas se han acoplado a ligandos diana-específicos. El ligando puede haberse seleccionado del grupo constituido por proteínas, anticuerpos, fragmentos de anticuerpos, péptidos, aptámeros, darpinas y otras moléculas que presentan una alta afinidad para los receptores específicos para enfermedades. Las moléculas adecuadas con afinidad para receptores son conocidos por los expertos en la materia.

15 Tres tipos de estructura esquematizados o formas de realización de las partículas según la invención se describirán aquí (ver las Figuras 1 y 2):

Descripción de las Figuras 1 y 2

20 **La Figura 1 tipo 1** describe partículas según la invención del grupo descrito anteriormente constituido por compuestos inorgánicos de baja solubilidad (C), los cuales están inhibidos contra la coagulación sin presencia de estabilizante. Aquí las moléculas de agua adsorbidas y/o la carga eléctrica de la superficie de las partículas contribuyen a la estabilización de las partículas (sistemas denominados también sol).

25 **La Figura 1 tipo 2** describe partículas según la invención que se han estabilizado contra la agregación con moléculas tensoactivas. Además de los estabilizantes corrientes administrables por vía i.v., tales como por ejemplo polioxámeros, pueden utilizarse también copolímeros en bloque hechos especialmente a medida. Entre dichos copolímeros en bloque, pueden citarse por ejemplo los denominados copolímeros de bloques A/B doble hidrófilos, cuyo bloque A presenta capacidades coordinadores/estabilizantes y cuyo segundo bloque B protege las partículas contra la agregación y está constituido a menudo por polietilenglicol (PEG). Además de esto, las partículas según la invención pueden estar recubiertas con otros materiales, por ejemplo con materiales de recubrimiento tradicionales tales como carbohidratos, polietilenglicoles, ácidos poliacrílicos y –metacrílicos, ácidos grasos, sílice y/o silano, etc.

30 **La Figura 1 tipo 3** muestra otra forma de realización de las partículas según la invención con una estructura de partícula diana-específica, que se obtienen por acoplado adicional de ligandos específicos. Dichos ligandos pueden ser por ejemplo anticuerpos, sus fragmentos, péptidos, aptámeros, darpinas u otras pequeñas moléculas que presentan una alta afinidad para los receptores específicos para enfermedades. Los ligandos pueden estar acoplados o bien a través de la modificación química de las sustancias utilizadas para la estabilización o bien directamente a la partícula según la invención.

40 Además, el núcleo de las partículas según la invención puede estar constituido por dos materiales distintos (estructura de núcleo/capa; **Figura 2 tipos 1.1, 1.2, 1.3**). En dichas partículas, el C2 interno (o C1 externo) puede estar constituido, en una forma de realización preferida, por otro agente utilizable para el diagnóstico.

45 Por ejemplo, magnetitas (tales como Resovist o Supravist, Schering AG Alemania) pueden utilizarse como gérmenes de nucleación, y los compuestos inorgánicos de baja solubilidad descritos anteriormente pueden precipitarse o aplicarse a las mismas. En otra forma de realización, la capa de las partículas según la invención de los tipos 1.1, 1.2 y 1.3 puede estar constituida por cualquier envoltura farmacéuticamente aceptable.

50 La presente invención se refiere también a una composición farmacéuticamente utilizable en la que por lo menos un 0,001% de las partículas contenidas en la composición son partículas según la invención. Esto significa que una pequeña proporción de las partículas contenidas en el agente farmacéutico según la invención de una composición farmacéuticamente utilizable ya es suficiente para que dicha composición sea aplicable diagnóstica o terapéuticamente.

55 Al comparar las partículas según la invención con FDG, el estado técnico del mercado de los trazadores del PET, pueden describirse una serie de ventajas que resultan directamente del carácter de partícula de las partículas según la invención.

60 1. Preparación sencilla: Al contrario de FDG, la preparación de las nanopartículas inorgánicas no requiere etapas de síntesis orgánicas ni purificación. Los trazadores de PET inorgánicos de partículas según la invención se forman espontáneamente a temperatura ambiente. Por ejemplo, esto sucede al adicionar a la hidroxiapatita el isótopo, por ejemplo $[^{18}\text{F}]$, y mezclar los eductos así pre-formulados en el denominado “cold kit”. Esto significa un ahorro de recursos para el “Distribution Center” o el médico nuclear.

65 “Cold kit” quiere decir que inicialmente la matriz inorgánica de partículas está libre de partículas radiactivas. A continuación, inmediatamente antes de la utilización del agente farmacéutico, se introducen iones radiactivos por

adición de núclidos radiactivos adecuados en forma de iones, a raíz de lo cual los iones radiactivos ocupan los puestos de la red de la matriz inorgánica en una reacción de intercambio, sin que ello disturbe la superestructura de la matriz inorgánica.

- 5 2. Tiempo de preparación corto: El tiempo de preparación de una formulación de las partículas según la invención es más corto en un factor de por lo menos 10 que el tiempo requerido para la síntesis y purificación de FDG de la misma actividad, es decir, con el mismo tiempo de suministro, llega más producto activo al cliente. El tiempo de preparación de las nanopartículas viene determinado por la velocidad de precipitación de la matriz inorgánica y normalmente es de menos de 5 min, preferentemente menos de 1 min, de forma más preferida menos de 10 s. Por ejemplo, las partículas de fluoruro cálcico se forman espontáneamente dentro de un segundo tras el mezclado de las soluciones acuosas de cloruro cálcico y fluoruro sódico según una ecuación de la reacción de precipitación.
- 10
- 15 3. Tiempo de utilización más largo: Aunque la vida media de los isótopos, por ejemplo de $[^{18}\text{F}]$, es una constante natural ($t_{1/2}$ aproximadamente 110 min), una partícula según la invención contenida en una formulación diagnósticamente utilizable puede contener, no obstante, según el tamaño de partícula controlado por el procedimiento de preparación, hasta varios cientos de miles de átomos de $[^{18}\text{F}]$. Esto significa que cada partícula farmacológicamente activa permanece activa también cien mil veces más en la formación de imágenes PET que un trazador marcado una vez con $[^{18}\text{F}]$. Esto es de interés particular comercial cuando se utilizan conjugados 1:1 de biomoléculas caras tales como los anticuerpos e isótopos de PET. Las células así marcadas pueden seguirse también más tiempo en el organismo por medio de la formación de imágenes PET.
- 20
- 25 4. Targeting pasivo: Los vasos sanguíneos sanos presentan un endotelio cerrado. Están estancos y retienen las moléculas de mayor tamaño tales como por ejemplo albúmina o también las nanopartículas en la vía sanguínea. El endotelio de los vasos sanguíneos de tumores presenta agujeros por los cuales dichas partículas pequeñas según la invención pueden difundir fácilmente de la vía sanguínea al tejido. Puesto que además el transporte linfático en el tejido tumoral está disminuido, se concentran las partículas según la invención en el tumor – solamente debido al tamaño correcto a nanoescala.
- 30 5. Especificidad: Las nanopartículas son aptas para el “targeting” asociado a células, es decir, las partículas son absorbidas de forma predominante por las células del RES (sistema retículoendotelial), según su tamaño, estructura y carga superficiales. Esto permite marcar los macrófagos que circulan en la sangre, tras inyección de la formulación, directamente con las partículas según la invención. Esto permite la formación de imágenes de por ejemplo procesos de inflamación, los cuales están acompañados siempre de actividad de macrófagos aumentada.
- 35 6. Plataforma para la formación de imágenes molecular: Además de las posibilidades del “targeting” pasivo y del asociado a células, las partículas según la invención ofrecen otro direccionamiento selectivo de las partículas inorgánicas. El acoplamiento de los ligandos específicos para enfermedades a la superficie de las partículas según la invención permite un “targeting” activo de receptores, por ejemplo en la superficie de células.
- 40 7. Menor exposición del cerebro a la radiación: Al contrario de FDG, que es el estado de la técnica, las partículas según la invención no se concentran en el cerebro de forma no específica. Esto reduce por un lado la exposición del cerebro a la radiación y permite por otro lado un examen de planteamientos neurológicos.
- 45 8. Detección de focos muy pequeños: Además de otros factores, la resolución espacial del PET depende intrínsecamente de la longitud de trayectoria libre media de los positrones en el tejido (por ejemplo aproximadamente 3 mm en caso de positrones emitidos por $[^{18}\text{F}]$. Puesto que por ejemplo un isótopo de $[^{18}\text{F}]$ de FDG se desintegra libremente en el tejido, no es posible reducir la resolución por debajo de dicho límite físico. En cambio, los isótopos de las partículas según la invención están incorporados fijamente en una red cristalina. Esto aumenta la probabilidad de interacción de los positrones con los electrones y reduce la longitud de trayectoria libre promedio. Esto permite conseguir una mejora de la resolución espacial de PET. Esto permite una resolución que permite detectar tumores con un diámetro de menos de 3 mm. Aunque esta resolución no puede conseguirse en cada caso en función del detector utilizado, sí puede conseguirse con detectores apropiados.
- 50
- 55 9. Espectro de utilización extendido: Las partículas según la invención presentan una densidad electrónica similar a o más alta que la de los huesos, es decir, la acumulación de partículas puede visualizarse directamente en la TC (tomografía computarizada). Una formulación no radiactiva de las partículas según la invención (constituida por ejemplo por CaF_2 , el isótopo de flúor que ocurre naturalmente más frecuentemente, el $[^{19}\text{F}]$, el cual no es radiactivo) es apto para la formación de imágenes en el F-MRT (functional magnetic resonance tomography = imagen por resonancia magnética funcional).
- 60 10. Formación de imágenes multimodal: Las partículas según la invención, en particular de las formas de realización 1.1, 1.2 y 1.3 (ver la Figura 2), son aptas para la formación de imágenes multimodal, porque las mismas contienen, además del emisor de positrones, otra sustancia utilizable para fines diagnósticos.

Posibles variantes de preparación

Además de esto, la invención se refiere a la preparación de agentes farmacéuticos que contienen una matriz inorgánica de partículas, que contiene, además de la distribución natural de los elementos de los aniones o cationes que forman los tipos de estructura, proporciones de núclidos que emiten positrones, en la que el número de los núclidos que emiten positrones por matriz inorgánica de partículas es preferentemente más que o igual a 1.

Por tanto, la presente invención se refiere también a un procedimiento para la preparación de un agente farmacéutico según la invención, que comprende por lo menos una de las siguientes etapas de:

- (i) mezclar por lo menos dos soluciones de sales solubles según una ecuación de reacción de precipitación, en las que por lo menos una sal está enriquecida con núclidos que emiten positrones y en las que los cationes de una sal son precipitados juntos con los aniones de la otra sal y en las que la proporción que emite positrones forma parte del compuesto precipitado y por tanto forma una matriz inorgánica de partículas que contiene, además de la distribución natural de los elementos de los aniones o cationes que forman los tipos de estructura, proporciones de núclidos que emiten positrones,
- (ii) formar una suspensión según una ecuación de reacción de precipitación, que contiene la matriz inorgánica de partículas, que contiene, además de la distribución natural de los elementos de los aniones o cationes que forman los tipos de estructura, proporciones de núclidos que emiten positrones,
- (iii) mezclar por lo menos dos soluciones de sales solubles según una ecuación de reacción de precipitación para formar una matriz inorgánica y de adicionar posteriormente los núclidos que emiten positrones en forma aniónica o catiónica.

La invención se refiere también a un procedimiento para la preparación de un agente farmacéutico según la invención, que comprende por lo menos una de las siguientes etapas de:

- (iv) mezclar por lo menos dos soluciones de sales solubles según una ecuación de reacción de precipitación, en las que por lo menos una sal está enriquecida con los núclidos que emiten positrones citados anteriormente y en las que los cationes de una sal son precipitados juntos con los aniones de la otra sal y en las que la proporción que emite positrones forma parte del compuesto precipitado y por tanto forma una matriz inorgánica de partículas que contiene, además de la distribución natural de los elementos de los aniones o cationes que forman los tipos de estructura, proporciones de por lo menos uno de los núclidos que emiten positrones citados anteriormente,
- (v) formar una suspensión según una ecuación de reacción de precipitación, que contiene la matriz inorgánica de partículas, que contiene, además de la distribución natural de los elementos de los aniones o cationes que forman los tipos de estructura, proporciones de por lo menos uno de los núclidos que emiten positrones citados anteriormente,
- (vi) mezclar por lo menos dos soluciones de sales solubles según una ecuación de reacción de precipitación para formar una matriz inorgánica y de adicionar posteriormente por lo menos uno de los núclidos que emiten positrones citados anteriormente en forma aniónica o catiónica.

Dentro de la presente invención, puede llevarse a cabo una adición de estabilizantes y/o estabilizantes que llevan ligandos. Dentro de la presente invención, puede llevarse a cabo una utilización adicional de isótopos no radiactivos. Si se desea, puede llevarse a cabo una preparación y utilización de precursores como gérmenes de nucleación para el procedimiento según la invención. El procedimiento según la invención puede llevarse a cabo también por medio de la utilización de procesos de intercambio, que permiten por ejemplo un intercambio de iones OH^- con iones de $^{18}\text{F}^-$ en la estructura de partículas. En el procedimiento según la invención, puede realizarse un control del tamaño de partículas por medio de la variación de las relaciones de concentración de los eductos (materiales de partida). Al procedimiento según la invención, pueden seguir etapas para la modificación de las propiedades superficiales por selección de la envoltura farmacéutica. Al procedimiento según la invención, pueden seguir etapas para el acoplamiento de ligandos según los procedimientos físicos y químicos así como bioquímicos conocidos por los expertos en la materia. En el procedimiento según la invención, puede ajustarse la isotonía de la formulación. En el procedimiento según la invención, pueden realizarse, si se desea, una esterilización, reacción en autoclave o filtración estéril. En el procedimiento según la invención, pueden seleccionarse, en una etapa adicional, partículas inorgánicas con un diámetro de partícula total predeterminado.

A continuación, se describirán formas de realización preferidas del procedimiento según la invención.

(a) *Preparación general:* Los compuestos descritos anteriormente pueden prepararse mezclando simplemente dos soluciones acuosas de las sales solubles con la distribución de isótopos natural y la cantidad requerida de los eductos que emiten positrones. Esto puede realizarse por ejemplo adicionando los eductos por goteo y agitando o sacudiendo la mezcla resultante en cámaras mezcladoras especiales, por ejemplo mezcladoras de flujo de tres vías

(en forma de una y griega) con dos conductos de entrada, una cámara mezcladora y un conducto de salida, o también utilizando micromezcladoras conocidas de la tecnología de microsistemas. Los módulos corrientes para la síntesis especial de radiofármacos pueden utilizarse también, puesto que los mismos contienen los elementos de mezclado y agitación necesarios integrados en su estructura. Sin embargo, la preparación de las partículas descritas aquí es tan sencilla que puede desarrollarse también un sistema de mezclado manejable en el que están unidos los eductos, la cámara mezcladora y la jeringuilla de aplicación. La suspensión de partículas se forma inmediatamente tras mezclar las soluciones, situándose el tiempo de preparación en un intervalo de segundos.

(b) *Si se desea, preparación de distintos tipos de estructura:* El mezclado puede realizarse sin adición de estabilizante (tipos de estructura 1 y 1.1; Figuras 1 y 2), con adición de estabilizante (tipos de estructura 2 y 2.1; Figuras 1 y 2) o con adición de estabilizante que lleva un ligando (tipos de estructura 3 y 3.1; Figuras 1 y 2). Una co-precipitación con ligandos o ligandos modificados puede realizarse también.

(c) *Si se desea, utilización adicional de isótopos no radiactivos:* La preparación de las partículas puede realizarse a partir de los compuestos solubles directamente con los isótopos radiactivos, por ejemplo $[^{18}\text{F}]^-$, que se forma en solución acuosa por una reacción nuclear en el ciclotrón. La manipulación del proceso puede optimizarse por utilización de isótopos no radiactivos, tales como por ejemplo $[^{19}\text{F}]^-$.

(d) *Si se desea, preparación y utilización de precursores:* Otra variante de preparación consiste en utilizar precursores, que pueden servir de gérmenes de nucleación, de modo que se obtiene una estructura de núcleo/capa. El compuesto de destino mismo – pero con distribución de isótopos natural – o también un segundo agente de contraste, tal como por ejemplo partículas de magnetita o de maghemita, puede utilizarse como gérmenes de nucleación.

(e) *Si se desea, preparación utilizando procesos de intercambio:* Núclidos no radiactivos en una matriz inorgánica pueden sustituirse posteriormente por núclidos radiactivos tal como está previsto por la presente invención, con el fin de generar de esta manera la matriz inorgánica según la invención. Tomando el ejemplo de hidroxiapatita, una formulación lista de los tipos de estructura según la invención puede reaccionarse muy sencillamente con una solución acuosa de $[^{18}\text{F}]^-$. Los iones de $[^{18}\text{F}]^-$ sustituyen los iones OH^- en la estructura de hidroxiapatita, formando $[^{18}\text{F}]$ -fluorhidroxiapatita, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH}, [^{18}\text{F}])$, de partículas, sin que se distorba la superestructura.

(f) *Si se desea, control del tamaño de partícula:* El tamaño de nanopartículas puede controlarse a través de las relaciones de concentración de los eductos (materiales de partida).

En el procedimiento según la presente invención, los iones utilizados en la reacción de precipitación, que forman la matriz inorgánica, se adicionan preferentemente en una concentración comprendida entre $1 \cdot 10^{-11}$ mol/L y 40 mol/L, más preferentemente en una concentración comprendida entre $1 \cdot 10^{-7}$ mol/L y 10 mol/L, de forma más preferida en una concentración comprendida entre $1 \cdot 10^{-4}$ mol/L y 1 mol/L. El tamaño deseado de las partículas según la invención puede ajustarse, tal como se ha mencionado anteriormente, ajustando las concentraciones de los iones en la reacción de precipitación en valores determinados.

En el procedimiento según la presente invención, los iones utilizados en la reacción de precipitación, que constituyen la matriz inorgánica, se adicionan, de forma particularmente preferida, en caso de topacio $(\text{Al}_2\text{F}_2)(\text{SiO}_4)$ como matriz inorgánica, en una concentración comprendida entre $1,1 \cdot 10^{-4}$ y 184 g/L, en caso de quiolita $(\text{Na})(\text{Al}_3\text{F}_4)$ como matriz inorgánica, en una concentración comprendida entre $3,9 \cdot 10^{-4}$ y 180 g/L, en caso de wavelita $\text{Al}_3(\text{PO}_4)_2(\text{OH}, \text{F})_2$ como matriz inorgánica, en una concentración comprendida entre $2,1 \cdot 10^{-4}$ y 343 g/L, en caso de carbonato cálcico (CaCO_3) como matriz inorgánica, en una concentración comprendida entre $7,1 \cdot 10^{-3}$ y 100 g/L, en caso de maghemita $(\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3)$ como matriz inorgánica, en una concentración comprendida entre $9,4 \cdot 10^{-4}$ y 160 g/L, en caso de zeolitas (fórmula gen. $\text{M}_n[(\text{AlO}_2)_x(\text{SiO}_2)_y]$ (M = metal, por ejemplo Na)) como matriz inorgánica, en una concentración comprendida entre $1,3 \cdot 10^{-4}$ y 230 g/L, en caso de magnetita (Fe_3O_4) como matriz inorgánica, en una concentración comprendida entre $9,4 \cdot 10^{-4}$ y 230 g/L, en caso de sulfato de bario (BaSO_4) como matriz inorgánica, en una concentración comprendida entre $9,1 \cdot 10^{-3}$ y 233 g/L, en caso de fosfato de galio (GaPO_4) como matriz inorgánica, en una concentración comprendida entre $5,2 \cdot 10^{-9}$ y 164 g/L, en caso de apatita o fluorhidroxiapatita $(\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH}, \text{F}) = 3 \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot \text{Ca}(\text{OH}, \text{F})_2)$ como matriz inorgánica, en una concentración comprendida entre $1,8 \cdot 10^{-4}$ y 504 g/L y en caso de fluorespato (CaF_2) como matriz inorgánica, en una concentración comprendida entre $1,6 \cdot 10^{-2}$ y 78 g/L.

En el procedimiento según la presente invención, las reacciones de precipitación se llevan a cabo preferentemente a una temperatura comprendida entre 0°C y 100°C , más preferentemente entre 4°C y 60°C , de forma más preferida entre 10°C y 40°C .

(g) *Si se desea, modificación de las propiedades superficiales:* Las propiedades superficiales pueden modificarse utilizando distintos estabilizantes. Se prefieren los estabilizantes que forman una envoltura farmacéutica.

(h) *Si se desea, acoplamiento de ligandos:* Acoplamiento de ligandos por medio de procedimientos físicos y químicos así como bioquímicos convencionales. Los métodos de acoplamiento apropiados son conocidos por los expertos en la materia.

5 (i) *Si se desea, ajuste de la isotonia:* Para tener en cuenta ya la isotonia posterior de la formulación resultante, pueden utilizarse los compuestos de Cl y Na solubles correspondientes – u otras sustancias para la isotonia. Una solución isotónica presenta la misma presión osmótica que la sangre humana (aproximadamente 7,5 bar) y corresponde a una solución de sal común con una concentración de aproximadamente un 0,9%.

10 (j) *Si se desea, esterilización/reacción en autoclave/filtración estéril:* Las formulaciones – precursor o preparación lista – pueden esterilizarse por medio de métodos convencionales. Entre los métodos aptos, se incluyen la filtración estéril a un tamaño de poros de 0,2 µm o la esterilización en caliente en autoclave a 121°C, 1 bar, 15 a 30 min.

15 Las formas de realización y procedimientos de preparación descritos muestran que es posible proporcionar las partículas según la invención con sus propiedades, tales como por ejemplo composición, contenido de isótopos, tamaño y propiedades superficiales en distintas formulaciones, con lo cual pueden ajustarse de forma selectiva a los requerimientos farmacológicos.

Utilización de las partículas según la invención

20 Los agentes farmacéuticos según la invención se utilizan en medicina, preferentemente como agente diagnóstico, *in vitro* e *in vivo*. Se prefiere en particular su utilización en el diagnóstico soportado por imágenes de la tomografía de emisión de positrones (PET) y también de PET-CT. Las partículas según la invención pueden utilizarse en la investigación farmacológica tanto en medicina veterinaria como medicina humana. Para las aplicaciones
25 diagnósticas, se administra la dosis eficaz a un paciente. Preferentemente, la administración se realiza por vía intravenosa. A continuación, tras periodos predeterminados, se determina la distribución de las partículas según la invención por medio de PET o PET-TC o, si se desea, por medio de otros métodos. Los métodos apropiados son conocidos por los expertos en la materia. Los agentes farmacéuticos según la invención se utilizan también en la
30 terapia local-regional.

A continuación, las posibles indicaciones y mecanismos de utilización se describirán haciendo referencia a ejemplos.

Utilización de las partículas según la invención de forma análoga a los coloides para la MRT (imagen por resonancia magnética), por ejemplo Resovist y Supravist (Schering AG, Alemania)

35 Las partículas según la invención pueden utilizarse en todas las indicaciones de Resovist, por ejemplo exploración del hígado, y de Supravist, por ejemplo angiografía.

Utilización de las partículas según la invención de forma similar que los coloides para la SPECT (Tomografía Computarizada por Emisión de Fotones Individuales), por ejemplo NanoCis (CisBio, Francia)

40 En principio, las partículas según la invención pueden utilizarse en todas las indicaciones de NanoCis/NanoColl, por ejemplo detecciones de ganglios linfáticos centinela. Los tipos de estructura de núcleo/capa con magnetita en el núcleo pueden utilizarse para los métodos de formación de imágenes en el área de la detección de ganglios
45 linfáticos centinela.

Utilización de las partículas según la invención para el “targeting” pasivo

50 Un control del tamaño y de las propiedades superficiales permite la producción a medida de nanopartículas para el “targeting” pasivo de tejidos tumorales. El mecanismo del “targeting” pasivo se ha representado esquemáticamente en la Figura 3.

Descripción de la Figura 3

55 Los vasos sanguíneos sanos presentan un endotelio cerrado. Están estancos y retienen las moléculas más grandes tales como por ejemplo albúmina o también nanopartículas en la vía sanguínea. El endotelio de los vasos sanguíneos en los tumores presenta agujeros por los cuales pueden difundir dichas partículas pequeñas según la invención fácilmente de la vía sanguínea al tejido. Puesto que además el transporte linfático en el tejido tumoral se encuentra disminuido, las partículas según la invención se acumulan en el tumor – solamente debido a su tamaño
60 correcto a nanoescala.

Además de esto, el medio específico en el tejido tumoral puede conseguir que las partículas según la invención asuman allí propiedades distintas, que son utilizables para fines diagnósticos.

65 *Utilización de las partículas según la invención para el “targeting” asociado a células*

Según su tamaño, estructura y carga superficiales, las partículas según la invención son absorbidas en particular por las células del RES (sistema retículoendotelial). Esto permite marcar los macrófagos que circulan en la sangre, tras la inyección de la formulación, directamente con las partículas según la invención. Esto permite la formación de imágenes de por ejemplo procesos inflamatorios, que siempre están acompañados de actividad de macrófagos aumentada.

Utilización de las partículas según la invención para el "targeting" activo

Ligandos específicos pueden utilizarse para reconocer estructuras de tejidos de forma selectiva. Por ejemplo, anti-L-selectina es apta para la visualización de ganglios linfáticos. ICAM y VCAM son marcadores de inflamación específicos, que desempeñan un papel importante también para la detección de MS. Además de esto, E-selectina es apta para reconocer focos de inflamación y también muchos tipos de tumores. EDB-fibronectina es específica para la angiogénesis, mientras que un anticuerpo anti-CD105 (endoglina) puede utilizarse para visualizar el cáncer de mama. Otros ligandos y receptores utilizables son conocidos por los expertos en la materia.

Puesto que la preparación de las partículas según la invención no presenta problemas y los ligandos específicos pueden cambiarse en particular a través de los estabilizantes, las partículas según la invención sirven de tecnología de plataforma flexible.

Utilización de las partículas según la invención para la formación de imágenes de células madre (Stem-Cell Tracking)

Las partículas según la invención permiten marcajes de células madre.

Utilización de las partículas según la invención para la superación de la barrera hematoencefálica (BBB Delivery)

Las estrategias de suministro (delivery strategies) conocidas de la literatura técnica (por ejemplo Pathfinder Technology) pueden utilizarse para traspasar la barrera hematoencefálica.

Por tanto, la presente invención se refiere también a un agente farmacéutico según la invención para el diagnóstico por medio de la tomografía de emisión de positrones de una enfermedad seleccionada del grupo constituido por las enfermedades de proliferación, enfermedades inflamatorias, enfermedades autoinmunes, enfermedades del tracto digestivo, arteriosclerosis, ataque apoplético, infarto, modificaciones patológicas del sistema de vasos sanguíneos, del sistema linfático, del páncreas, del hígado, del riñón, del cerebro y de la vejiga, así como enfermedades de la propagación de los estímulos eléctrica y enfermedades neurodegenerativas. La enfermedad de proliferación puede estar seleccionada del grupo constituido por un tumor, una precancerosis, una displasia, una endometriosis y una metaplasia. La enfermedad autoinmune puede estar seleccionada del grupo constituido por artritis reumatoide, enfermedad de intestino inflamatoria, osteoartritis, dolores neuropáticos, alopecia areta, psoriasis, artritis psoriásica, pancreatitis aguda, rechazo de aloinjertos, alergias, inflamaciones del pulmón alérgicas, esclerosis múltiple, Alzheimer, Morbus Crohn, y lupus eritematoso sistémico.

Por tanto, la presente invención se refiere también a un agente farmacéutico según la invención para la terapia local-regional de una enfermedad seleccionada del grupo constituido por las enfermedades de proliferación, enfermedades inflamatorias, enfermedades autoinmunes, enfermedades del tracto digestivo, arteriosclerosis, ataque apoplético, infarto, modificaciones patológicas del sistema de vasos sanguíneos, del sistema linfático, del páncreas, del hígado, del riñón, del cerebro y de la vejiga, así como enfermedades de la propagación de los estímulos eléctrica y enfermedades neurodegenerativas. La enfermedad de proliferación puede estar seleccionada del grupo constituido por un tumor, una precancerosis, una displasia, una endometriosis y una metaplasia. La enfermedad autoinmune puede estar seleccionada del grupo constituido por artritis reumatoide, enfermedad de intestino inflamatoria, osteoartritis, dolores neuropáticos, alopecia areta, psoriasis, artritis psoriásica, pancreatitis aguda, rechazo de aloinjertos, alergias, inflamaciones del pulmón alérgicas, esclerosis múltiple, Alzheimer, Morbus Crohn, y lupus eritematoso sistémico.

A continuación, la invención se ilustrará haciendo referencia a los siguientes ejemplos:

Ejemplo detallado 1: Fluoruro cálcico de partículas, CaF_2 , como agente diagnóstico de PET

1.1 Descripción general

CaF_2 es precipitado como compuesto de baja solubilidad (solubilidad de fluorespato: 17 mg/L a 20°C y 16 mg/L a 18°C), tras mezclar los compuestos hidrosolubles CaCl_2 y NaF (KF, NH_4F o HF pueden utilizarse también para que la preparación sea un éxito) en forma de un sedimento o también en forma de un coloide disperso ("nanopartículas") tras el mezclado de niveles de concentración adecuadamente bajos.

Ecuación de la reacción de precipitación:
 $\text{CaCl}_2 + 2 \text{F}^- \rightarrow \text{CaF}_2\downarrow + 2 \text{Cl}^-$

En presencia de estabilizantes apropiados, por ejemplo Poloxamer F68, se forman nanopartículas aun cuando los niveles de concentración sean mucho más altos. Estabilizantes calcófilos tales como copolímeros en bloque del tipo poli(ácido acrílico) en bloque/PEG, polímeros en bloque/PEG funcionalizados con fosfato, polímeros en bloque/PEG funcionalizados con fosfonato son particularmente aptos para dicho fin.

Esto puede deducirse de los productos de solubilidad de “bajo peso molecular”:

Carboxilato cálcico	pKL (25°C) = 8,1
Fosfato cálcico	pKL (25°C) = 29,5
Fosfonato cálcico	pKL (25°C) = 52

Un acoplamiento químico de los estabilizantes a ligandos diana-específicos tales como anticuerpos, sus fragmentos, péptidos, etc., del tipo *ligando/PEG/polímero en bloque calcófilo* suministra nanopartículas que son capaces de unirse a dianas adecuadas en el paciente orientado hacia la diana.

$[18]F^-$ se comporta químicamente como $[19]F^-$. Para la preparación de un agente diagnóstico de PET, $[18]F^-$ se adiciona a la solución de $Na[19]F$ por ejemplo como solución de $H[18]F$ o $Na[18]F$ que presenta la radiactividad requerida, la solución resultante se mezcla y se utiliza para la precipitación según la reacción de precipitación.

El núclido $[18]F$ presenta una vida media de aproximadamente $t_{1/2} = 110$ min. Se prepara en el ciclotrón según la siguiente reacción de blanco:

Material de blanco	Reacción de blanco	Producto	Núclido
$[18]O-H_2O$	$[18]O \rightarrow (p, n) \rightarrow [18]F$	$[18]F^-$	$[18]F$

En solución acuosa, $[18]F^-$ es obtenido como HF. La concentración de fluoruro varía normalmente entre 50 y 400 GBq/ μ mol según el proceso y el diseño del ciclotrón.

1.2 Realización

1.2.1 Nanopartículas de CaF_2 libres de tensoactivo

La cantidad adecuada de la solución de $[18]F^-$ se mezcla con una solución de fluoruro de potasio (KF) no radiactiva de tal manera que se obtiene 1 mL de una solución acuosa de KF de la concentración 0,1 mol/L. 1 mL de la solución acuosa de KF (0,1 mol/L) se mezcla con 1 mL de una solución acuosa de $CaCl_2$ de la concentración 0,05 mol/L en un vial sacudiendo la solución. Las nanopartículas de CaF_2 se forman inmediatamente, lo cual es reconocible por la opalescencia ligera de la dispersión resultante (Figura 4).

La determinación de la distribución de los tamaños de partículas por medio de la dispersión de luz dinámica (DLS) da un tamaño de partícula medio de 71,5 nm (ponderado por intensidad).

La repetición del experimento da un tamaño de partícula de 81,7 nm.

Utilizando la cromatografía de capa fina (eluyente: metanol o cetona de metilo y etilo) y un detector adecuado, es posible demostrar que más de un 90% de la radiactividad utilizada está unida a las partículas según la invención y es retenida sobre la línea de base ($R_f = 0$).

En una segunda serie de experimentos, en lugar de la solución de KF, se mezcla una solución de fluoruro sódico (NaF) (0,1 mol/L) con 1 mL de una solución acuosa de $CaCl_2$ (0,05 mol/L). Aquí también, se forman nanopartículas CaF_2 , y la dispersión presenta un aspecto opalescente. Aquí, la determinación de los tamaños de partículas con DLS da 75,9 nm. Aquí también, más de un 90% de la radiactividad se encuentra unida a las partículas según la invención.

1.2.2 Nanopartículas de CaF_2 estabilizadas con tensoactivo

1 mL de una solución acuosa de KF (0,1 mol/L) de la radiactividad deseada se mezcla con 1 mL de una solución acuosa de $CaCl_2$ (0,05 mol/L) en la que anteriormente se había solucionado 1% en peso de Pluronic F68 (también conocido bajo el nombre de Poloxamer 188) en un vial sacudiendo la solución. Las nanopartículas de CaF_2 se forman inmediatamente, lo cual es reconocible por la opalescencia ligera de la dispersión resultante.

Más de un 90% de la radiactividad utilizada se encuentra unida a las partículas según la invención.

La determinación de la distribución de los tamaños de partículas por medio de la dispersión de luz dinámica (DLS) da un tamaño de partícula promedio de 64,5 nm (ponderado por intensidad). Una distribución de los tamaños de partículas ejemplar se ha representado en la Figura 5.

El experimento se repite siete veces y se determina el tamaño de partícula con DLS. Después de 24 horas, se mide otra vez la distribución de los tamaños de partículas. Los resultados se han recopilado en la Tabla 2.

Tabla 2: Tamaño de partícula promedio de nanopartículas de CaF_2 estabilizadas con F68 inmediatamente tras su preparación y 24 horas más tarde.

Muestra	Ponderado por intensidad [nm]	Estabilidad [24h]
1	64,5	66,7
2	64,6	66,1
3	61,3	64,0
4	57,1	60,4
5	59,4	70,8
6	54,8	61,5
7	57,3	No determinado
Valor promedio [nm]	60,3	64,9
DESVEST [nm]	4,0	3,5
CV [%]	6,6	5,3

La serie de experimentos muestra una buena reproducibilidad del tamaño de nanopartículas (coeficiente de variación < 7%). El tamaño de partícula después de un tiempo de permanencia de 24 horas a temperatura ambiente ha aumentado ligeramente de un valor promedio de $60,3 \pm 4,0$ nm ($n = 7$) a $64,9 \pm 3,5$ nm ($n = 6$), pero dicho aumento se encuentra todavía dentro del intervalo de la desviación estándar de la serie de experimentos y por tanto es estadísticamente insignificante. A consecuencia de esto, las nanopartículas de CaF_2 son estables durante por lo menos 24 h con relación a su distribución del tamaño de partículas.

1.2.3 Control del tamaño de partícula de las nanopartículas de CaF_2

La serie de experimentos descrita anteriormente se repitió, con la excepción de que las nanopartículas de CaF_2 se prepararon a partir de una solución de KF y una solución de CaCl_2 más concentrada. Junto con los resultados para la prueba de la reproducibilidad (Ejemplo 1.2.2), en la Figura 6 se han representado los tamaños de partículas como resultado de mezclar 1 mL de una solución de KF 0,2 mol/L con una solución de CaCl_2 0,1 mol/L y una solución de KF 0,4 mol/L con una solución de CaCl_2 0,2 mol/L, respectivamente. El tamaño de partícula aumenta de aproximadamente 60 nm a aproximadamente 400 nm a medida que aumenta la concentración.

Ejemplo 2: Compuesto de carbonato inorgánico de $[^{11}\text{C}]$ o $[^{15}\text{O}]$ de baja solubilidad de nanopartículas y su utilización como agente diagnóstico de PET

Ejemplo: Carbonato cálcico, CaCO_3 , de nanopartículas, como agente diagnóstico de PET

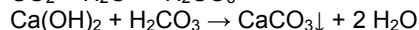
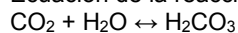
Los núclidos se preparan en el ciclotrón según la siguiente reacción de blanco:

Material de blanco	Reacción de blanco	Producto	Núclido
N_2 + un 0,5% de O_2	$\text{N}^{14} \rightarrow (\text{p}, \alpha) \rightarrow \text{C}^{11}$	CO_2	$[^{11}\text{C}]$
N_2 + un 2% de O_2	$\text{N}^{14} \rightarrow (\text{d}, \text{n}) \rightarrow \text{O}^{15}$	CO_2	$[^{15}\text{O}]$

$\text{C}[^{11}]$ $t_{1/2} = 20,7$ min

$\text{O}[^{15}]$ $t_{1/2} = 2$ min

Ecuación de la reacción de precipitación:



Según la reacción precipitación, en presencia de estabilizantes apropiados, por ejemplo F68, se forman nanopartículas. Estabilizantes calcófilos tales como copolímeros en bloque del tipo poli(ácido acrílico) en bloque/PEG, polímeros en bloque/PEG funcionalizados con fosfato, polímeros en bloque/PEG funcionalizados con fosfonato son particularmente aptos para dicho fin.

Un acoplamiento químico de los estabilizantes a ligandos diana-específicos tales como anticuerpos, sus fragmentos, péptidos, etc., del tipo ligando/PEG/polímero en bloque calcófilo suministra nanopartículas que son capaces de unirse a dianas adecuadas en el paciente orientado hacia la diana.

Ejemplo 3: Compuestos de $[^{18}\text{F}]$ fluorhidroxiapatita ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH}, [^{18}\text{F}])$ de nanopartículas y su utilización como agente diagnóstico de PET

3.1 Preparación de las partículas de hidroxiapatita

A una solución acuosa de CaCl_2 0,1 mol, se adiciona ácido cítrico de tal manera que la misma está presente en una concentración de 5% en peso. El valor pH se ajusta en 9-11 por adición de una solución de NaOH 0,1 mol. A continuación, se prepara una solución acuosa de Na_3PO_4 de tal manera que en las soluciones se obtiene una relación Ca/P de 1,67. La solución de Na_3PO_4 se adiciona a la solución de CaCl_2 por goteo a temperatura ambiente agitando la solución con un agitador magnético. Se forma un precipitado de hidroxiapatita.

3.2 Preparación de las partículas de $[^{18}\text{F}]$ fluorhidroxiapatita

Para preparar las partículas de $[^{18}\text{F}]$ fluorhidroxiapatita, se mezcla una dispersión según el Ejemplo 3.1 con una solución que contiene iones de $[^{18}\text{F}]^-$ en la intensidad de radiactividad requerida, es decir, en la concentración adecuada. La sustitución de iones de hidroxilo por iones de fluoruro da partículas de $[^{18}\text{F}]$ fluorhidroxiapatita que son aptas para la formación de imágenes.

Descripción de las Figuras

Figura 1

La Figura 1 tipo 1 describe partículas según la invención del grupo descrito anteriormente constituido por compuestos inorgánicos de baja solubilidad (C), los cuales están inhibidos contra la coagulación sin presencia de estabilizante. Aquí las moléculas de agua adsorbidas y/o la carga eléctrica de la superficie de las partículas contribuyen a la estabilización de las partículas (sistemas denominados también sol).

La Figura 1 tipo 2 describe partículas según la invención que se han estabilizado contra la agregación con moléculas tensoactivas. Además de los estabilizantes corrientes administrables por vía i.v., tales como por ejemplo polioxámeros, pueden utilizarse también copolímeros en bloque hechos especialmente a medida. Entre dichos copolímeros en bloque, pueden citarse por ejemplo los denominados copolímeros de bloques A/B doble hidrófilos, cuyo bloque A presenta capacidades coordinadores/estabilizantes y cuyo segundo bloque B protege las partículas contra la agregación y está constituido a menudo por polietilenglicol (PEG). Además de esto, las partículas según la invención pueden estar recubiertas con otros materiales, por ejemplo con materiales de recubrimiento tradicionales tales como carbohidratos, polietilenglicoles, ácidos poliacrílicos y –metacrílicos, ácidos grasos, sílice y/o silano, etc.

La Figura 1 tipo 3 muestra otra forma de realización de las partículas según la invención con una estructura de partícula específica para la diana, que se obtienen por acoplado adicional de ligandos específicos. Dichos ligandos pueden ser por ejemplo anticuerpos, sus fragmentos, péptidos, aptámeros, darpinas u otras pequeñas moléculas que presentan una alta afinidad para los receptores específicos para enfermedades. Los ligandos pueden estar acoplados o bien a través de la modificación química de las sustancias utilizadas para la estabilización o bien fijados directamente a la partícula según la invención.

Fig. 2: Además, el núcleo de las partículas según la invención puede estar constituido por dos materiales distintos (estructura de núcleo/capa; **Figura 2 tipos 1.1, 1.2, 1.3**). En dichas partículas, el C2 interno (o C1 externo) puede estar constituido, en una forma de realización preferida, por otro agente utilizable para el diagnóstico. Por ejemplo, magnetitas pueden utilizarse como gérmenes de nucleación, y los compuestos inorgánicos de baja solubilidad descritos anteriormente pueden precipitarse o aplicarse a las mismas.

En otra forma de realización, la capa de las partículas según la invención de los tipos 1.1, 1.2 y 1.3 puede estar constituida por cualquier envoltura farmacéuticamente aceptable.

Fig. 3: Representación del mecanismo del “targeting” pasivo. Los vasos sanguíneos sanos presentan un endotelio cerrado. Están estancos y retienen las moléculas más grandes tales como por ejemplo albúmina o también nanopartículas en la vía sanguínea. El endotelio de los vasos sanguíneos en los tumores presenta agujeros por los cuales pueden difundir dichas partículas pequeñas según la invención fácilmente de la vía sanguínea al tejido. Puesto que además el transporte linfático en el tejido tumoral se encuentra disminuido, las partículas según la invención se acumulan en el tumor – solamente debido a su tamaño correcto a nanoescala.

Fig. 4: Fotografía de una dispersión de CaF_2 según el Ejemplo 1.2.1 lista para su aplicación. Las nanopartículas de CaF_2 son reconocibles por la opalescencia ligera de la dispersión resultante.

Fig. 5: Distribución de los tamaños de partícula ejemplar de las partículas de CaF_2 según el Ejemplo 1.2.2 determinada por dispersión de luz dinámica.

Fig. 6: Control del tamaño de partícula de las nanopartículas de CaF_2 a base de 11 experimentos independientes de forma similar que en las instrucciones de preparación descritas según el Ejemplo 1, en particular según el Ejemplo 1.2.3. De esta manera, el tamaño de partícula promedio de la distribución de los tamaños de partícula puede ajustarse en un intervalo de 60 nm a aproximadamente 400 nm.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Agente farmacéutico, que contiene una matriz inorgánica de partículas que comprende, además de la distribución de isótopos natural de los elementos de los aniones o cationes que forman el tipo de estructura, proporciones de núclidos que emiten positrones, comprendiendo el tipo de estructura así como las mezclas de estructuras amorfas y estructuras cristalinas siendo el número de núclidos que emiten positrones por matriz inorgánica de partículas mayor que o igual a 1, siendo seleccionada la matriz inorgánica de partículas de entre el grupo que comprende topacio $(Al_2F_2)[SiO_4]$, quiolita $(Na)[Al_3F_4]$, wavelita $Al_3(PO_4)_2(OH, F)_2$, carbonato cálcico $(CaCO_3)$, maghemita $(\gamma-Fe_2O_3)$, zeolita (fórmula general $M_n[(AlO_2)_x(SiO_2)_y]$ (M = metal, por ejemplo Na)), magnetita (Fe_3O_4) , sulfato de bario $(BaSO_4)$, fosfato de galio $(GaPO_4)$, apatita o fluorhidroxiapatita $(Ca_5(PO_4)_3(OH, F) = 3 Ca_3(PO_4)_2 * Ca(OH, F)_2)$ y fluorespato (CaF_2) y siendo seleccionados los núclidos que emiten positrones de entre el grupo que comprende $[^{15}O]$, $[^{30}P]$, $[^{13}N]$, $[^{65}Ga]$, $[^{11}C]$, $[^{131}Ba]$, $[^{26}Al]$, $[^{68}Ga]$ y $[^{18}F]$.
- 15 2. Agente farmacéutico según la reivindicación 1, en el que la matriz inorgánica presenta un diámetro comprendido entre 0,1 nm y 100 μm .
3. Agente farmacéutico según la reivindicación 1 ó 2, en el que la matriz inorgánica de partículas está en una envoltura farmacéutica.
- 20 4. Agente farmacéutico según una de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la matriz inorgánica de partículas está acoplada a ligandos diana-específicos.
- 25 5. Procedimiento para la preparación de un agente farmacéutico según una de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende por lo menos una de las siguientes etapas:
 - (i) mezclar por lo menos dos soluciones de sales solubles según una ecuación de reacción de precipitación, en las que por lo menos una sal está enriquecida con núclidos que emiten positrones y en las que los cationes de una sal son precipitados junto con los aniones de la otra sal y en las que la proporción que emite positrones forma parte del compuesto precipitado y forma, de este modo, una matriz inorgánica de partículas, que contiene, además de la distribución de isótopos natural de los elementos de los aniones o cationes que forman los tipos de estructura, proporciones de núclidos que emiten positrones,
 - 30 (ii) formar una suspensión según una ecuación de reacción de precipitación, que contiene la matriz inorgánica de partículas, que, además de la distribución de isótopos natural de los elementos de los aniones o cationes que forman los tipos de estructura, contiene proporciones de núclidos que emiten positrones,
 - 35 (iii) mezclar por lo menos dos soluciones de sales solubles según una ecuación de reacción de precipitación para formar una matriz inorgánica y añadir posteriormente los núclidos que emiten positrones en forma aniónica o catiónica.
 - 40
- 45 6. Composición farmacéutica, en la que por lo menos un 0,001% de las partículas contenidas en la composición son matrices inorgánicas partículas según una de las reivindicaciones 1 a 4.
7. Agente farmacéutico según una de las reivindicaciones 1 a 4 para ser utilizado en la formación de imágenes para diagnóstico.
- 50 8. Agente farmacéutico según una de las reivindicaciones 1 a 4 para la terapia local-regional de una enfermedad.

Fig. 1

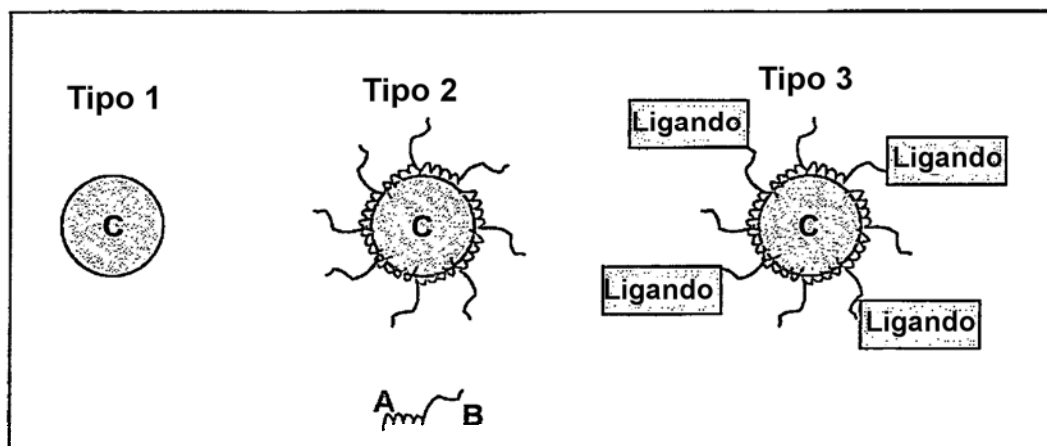


Fig. 2

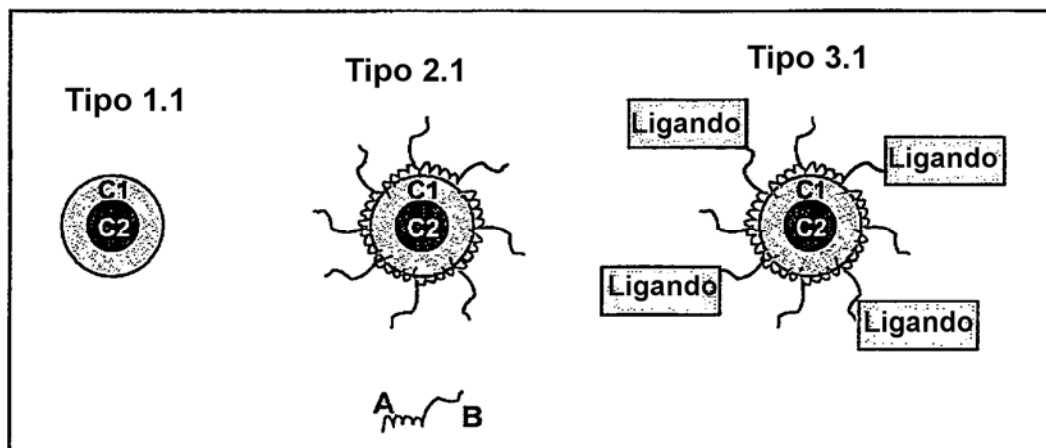


Fig. 3

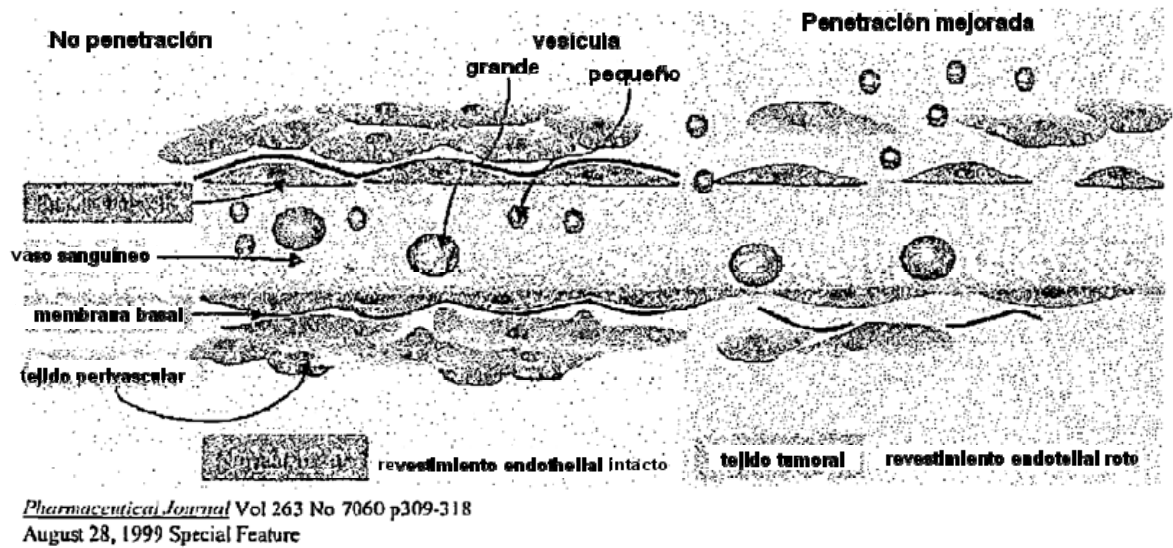


Fig. 4



Fig. 5

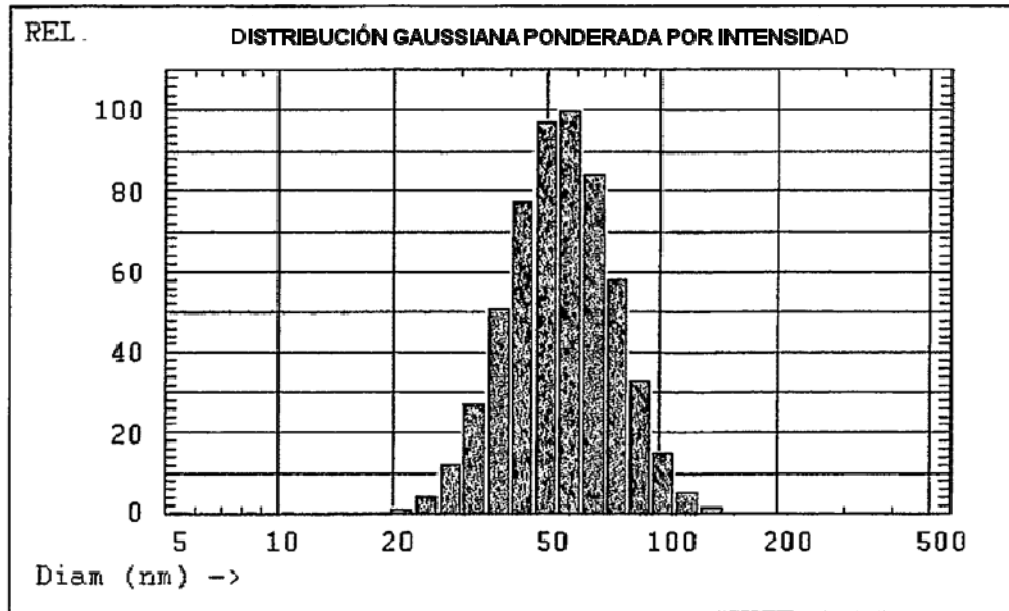


Fig. 6

